

本態性高血圧症における Spironolactone 長期治療の, ACTH に対する血漿 aldosterone 反応に及ぼす影響

—Spironolactone の aldosterone 生合成抑制作用について—

金沢大学医学部第2内科 (主任: 竹田亮祐教授)

金 敬 洙

(昭和53年10月31日受付)

Spironolactone は、主として腎の遠位尿細管での aldosterone の Na 貯留, K 排泄作用に特異的に拮抗し¹⁾²⁾, 体液量減少, 血圧下降をきたすことが知られており, 臨床的にも利尿剤あるいは降圧剤として広く使用されている。

近年, Spironolactone はまた副腎に直接作用して, aldosterone の生合成を抑制することが報告され^{3)~8)}, Spironolactone 作用機序の新たな面として注目されてきている。

正常人に利尿剤投与を行なうと, 血中及び尿中 aldosterone が増加するが, Spironolactone を投与しておく, この増加がみられず⁴⁾, また原発性アルドステロン症患者に Spironolactone を投与すると, 血漿レニン活性抑制が改善されるのに, aldosterone 分泌量は Spironolactone 投与前よりも, かえって低下することが報告されている⁵⁾。これらの成績は, Spironolactone が副腎における aldosterone 生合成を抑制していることを示す所見と考えられている。しかし本態性高血圧症患者^{9)~11)}や原発性アルドステロン症患者⁵⁾⁸⁾を Spironolactone で長期治療した場合には, 血漿レニン活性が増加してくる。これは Spironolactone の腎での抗アルドステロン作用による二次的現象と考えられている。この現象のため, Spironolactone を長期間にわたり投与した際に, 果して aldosterone 生合成が抑制されるのか否かについては, いまだ明らかではない。

ラット副腎を用いた in vitro の実験で, Spironolactone は, ACTH 刺激による aldosterone 産生を阻害することが知られている³⁾。そこで著者は Spironolactone で長期治療中の本態性高血圧症患者を対象とし

て, aldosterone 生合成抑制の有無を明らかにするため, ACTH 急性刺激に対する血漿 aldosterone 反応を調べ, Hydrochlorothiazide 長期投与中の本態性高血圧症患者のそれと比較検討した。なお, Hydrochlorothiazide は, 主として腎の遠位尿細管に作用して Na 再吸収に拮抗し, 体液量減少を介して降圧をきたす薬剤で, 二次性アルドステロン症を惹起するが副腎での aldosterone 生合成には影響を及ぼさないことが知られている^{12)~14)}。

対象及び実験方法

対象は, 軽症あるいは中等症高血圧¹⁵⁾を有する 25 名の患者であり, これらの患者は入院期間中, 生化学及びレントゲン学的検索により原発性アルドステロン症, クッシング症候群, 褐色細胞腫, 腎血管性高血圧及び腎実質性高血圧等の二次性高血圧を否定し, 本態性高血圧症と診断した症例である。またこれらの患者の心及び腎機能には著変は認められなかった。

入院期間中, 患者はすべての薬剤を中止し Na 200mEq/日, K 60mEq/日を含む食事を摂取した。

迅速 ACTH 刺激試験は, 患者を前夜 9 時よりベッド安静を保たせ, 当日午前 8 時に臥位にて前採血し, 水溶性合成 α^{1-24} ACTH 250 μ g を筋注した後, 30 分後, 60 分後に採血し, 各々血漿 aldosterone (PA) 及び血漿 cortisol (PC) 測定に供した。血漿レニン活性 (PRA) 測定用採血は午前 6 時安静臥位にて行なった。

これらの検査終了後, 患者を 2 群に分け (Table 1, 2), 第 I 群 (男性 11 名, 女性 3 名, 計 14 名) には Hydrochlorothiazide (HCT) 50 ~ 75mg/日を投与し, HCT 治療群とした。HCT 治療群には低 K

Altered Response of Plasma Aldosterone to α^{1-24} ACTH during Long-term Spironolactone Treatment in Patients with Essential Hypertension. Kim Kyung Su, Second Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University.

血症防止のため、K 製剤を投与した者をも含めた。第Ⅱ群 (男性 8 名、女性 3 名、計 11 名) には Spironolactone (Sp) 75 ~ 100mg/ 日を投与し、Sp 治療群とした。両治療群の年齢はマッチさせた。

退院後、外来にて患者の血圧をコントロールし、その間、頻回に PRA 及び血清 Na, K の測定を行なった。少なくとも 8 ヶ月以上の外来治療を行なった後、患者を再入院させ、Hydrochlorothiazide あるいは Spironolactone 治療を継続したまま、前回入院時と同一条件で迅速 ACTH 刺激試験を行なった。

PRA は既報¹⁶⁾の如く、Skinner 改良法¹⁷⁾による bioassay にて行なった。PA は CIS 社の抗 aldosterone 抗体を用い、PC は第一ラジオアイン

トープ社の抗 cortisol 抗体を用い、radioimmunoassay¹⁸⁾¹⁹⁾ (RIA) キットにて測定した。

PA の測定感度、同時再現性及び日差再現性は、それぞれ、3.0pg, 9.7%, 13.8% であり、PC では、0.5ng, 10.5%, 15.1% であった。16 才より 55 才迄の正常人 53 名について、Na 200mEq/ 日摂取下、午前 8 時に採血したサンプルについての PA, PC の平均値 (M) ± 標準偏差 (SD) は、それぞれ、7.3 ± 2.8ng/dl, 12.8 ± 2.9µg/dl であった。

Spironolactone 服用者で、PA, PC の RIA の特異性を検討するため、両抗体と Spironolactone 及びその代謝産物との交叉反応を Abraham²⁰⁾の方法にて計算した。結果は Table 3 に示す如くである。

Table 1. Clinical Characteristics of Hydrochlorothiazide-treated Group

Case	Sex	Age (yr.)	Blood Pressure (mmHg)			Body Weight (kg)	Fundus Oculi (Scheie)	CTR (%)	PSP (%) (15min.)	Serum Sodium	(mEq/L) Potassium	PRA (ng/ml/h)	PA (ng/dl)	PC (ug/dl)
			Systolic	Diastolic	Mean									
1	M	57	166	98	121	61.0	H ₁ S ₁	49	35.0	142	4.0	1.6	4.8	10.2
2	F	53	170	96	121	63.0	H ₂ S ₂	51	30.0	147	4.5	2.0	6.6	13.9
3	M	43	160	100	120	60.5	H ₁ S ₁	53	34.0	141	4.6	1.5	7.2	13.4
4	M	46	210	110	143	64.0	H ₂ S ₁	50	25.0	141	4.5	1.2	8.2	11.3
5	F	55	174	100	125	53.0	H ₁ S ₂	48	42.5	144	4.7	1.0	10.4	8.2
6	M	40	148	96	113	51.0	H ₁ S ₁	50	37.0	141	3.9	0.8	7.4	14.2
7	M	52	160	96	118	56.0	H ₂ S ₁	46	28.5	141	4.1	0.8	6.0	9.8
8	F	41	174	100	125	61.5	H ₁ S ₁	53	35.0	140	4.0	1.1	7.9	13.5
9	M	51	160	102	121	70.0	H ₂ S ₂	48	31.5	142	4.3	2.1	9.9	9.6
10	M	39	180	100	127	67.0	H ₂ S ₂	52	30.5	142	4.5	0.6	7.4	7.2
11	M	41	182	110	134	58.5	H ₁ S ₁	50	29.5	140	4.2	0.3	7.6	11.0
12	M	56	170	100	123	48.0	H ₂ S ₁	51	26.5	142	3.8	0.2	5.0	12.4
13	M	34	176	110	132	52.0	H ₁ S ₁	50	32.0	140	4.3	0.2	9.9	10.4
14	M	53	172	104	127	64.0	H ₁ S ₁	43	42.0	135	3.9	0.1	6.1	10.0

PRA = Plasma Renin Activity

PA = Plasma Aldosterone

Pc = Plasma Cortisol

Table 2. Clinical Characteristics of Spironolactone-treated Group

Case	Sex	Age (yr.)	Blood Pressure (mmHg)			Body Weight (kg)	Fundus Oculi (Scheie)	CTR (%)	PSP (%) (15min.)	Serum Sodium	(mEq/L) Potassium	PRA (ng/ml/h)	PA (ng/dl)	PC (ug/dl)
			Systolic	Diastolic	Mean									
1	F	49	174	100	125	66.0	H ₁ S ₁	51	27.5	149	3.9	1.0	3.4	9.2
2	F	47	168	96	120	57.0	H ₂ S ₁	48	30.0	142	4.2	2.0	8.7	12.3
3	M	50	170	98	122	64.5	H ₁ S ₁	44	36.5	145	4.6	1.0	5.1	9.0
4	M	58	166	112	130	55.0	H ₂ S ₂	51	36.0	141	4.7	1.2	5.3	12.9
5	M	34	180	100	127	61.5	H ₂ S ₂	48	40.0	139	4.2	2.0	9.1	14.5
6	M	37	162	106	124	52.0	H ₁ S ₁	43	35.0	144	4.2	0.6	7.6	7.6
7	M	40	190	102	131	58.0	H ₁ S ₁	50	34.0	146	4.1	0.2	6.8	10.0
8	M	54	184	114	137	47.0	H ₁ S ₂	45	38.0	142	3.9	0.2	2.0	9.5
9	F	53	190	110	137	55.0	H ₁ S ₂	50	26.0	141	4.4	0.1	7.6	12.3
10	M	53	174	110	131	71.0	H ₁ S ₂	52	26.5	143	4.3	0.4	6.6	15.0
11	M	44	180	104	129	56.0	H ₂ S ₂	51	27.0	144	4.1	0.3	4.5	14.6

正常人に Spironolactone 200mg を服用させた際、その主な代謝産物である Canrenone の血中レベルが steady-state に達した時点の最高血中濃度は 500ng/ml²¹⁾である。それと比較すると抗 aldosterone 及び抗 cortisol 抗体に対する tracer binding の 50 % 抑制となる Canrenone の濃度はそれぞれ、7.1 μ g/ml、10.0 μ g/ml であった。従って Spironolactone 服用者においても両 RIA は高い特異性をもつことが確認された。

血清 Na, K は Technicon autoanalyzer により測定した。

結果はすべて $M \pm SD$ として表わし、有意差検定は、Student's paired 及び unpaired t test により行なった。

Table 3. Cross-reactions of Spironolactone and its Metabolites with Aldosterone and Cortisol antibody

Spironolactone and its metabolites	Cross-interference(%) with	
	Aantibody	Fantibody
Spironolactone	<0.00005	0.080
Canrenone	0.00033	1.500
15 α -OH-canrenone	0.00017	0.210
7 α -thiomethyl-spironolactone	0.00013	0.020
6 β -OH-sulfoxide	0.00022	0.130
6 β -OH-thiomethyl	0.00014	0.017

A: Aldosterone F: Cortisol

成 績

Hydrochlorothiazide 及び Spironolactone の治療効果 (Table 4)。

：本研究にて使用した Hydrochlorothiazide あるいは Spironolactone の治療量によって全症例に高血圧の改善を認め、8 ヶ月以上にわたり、降圧効果が維持された。

血圧は、HCT 治療群では治療前、収縮期 172 \pm 14mmHg、拡張期 102 \pm 15mmHg、平均 125 \pm 8mmHg、治療後は、収縮期 138 \pm 10mmHg、拡張期 82 \pm 8mmHg、平均 101 \pm 8mmHg であり、有意の低下を示した ($P < 0.01$)。SP 治療群では治療前、収縮期 176 \pm 14mmHg、拡張期 105 \pm 6mmHg、平均 128 \pm 6mmHg、治療後は、収縮期 142 \pm 8mmHg、拡張期 86 \pm 6mmHg、平均 104 \pm 5mmHg であり同じく有意の低下を示した ($P < 0.01$)。

体重は、HCT 治療群では治療前、59.3 \pm 6.5kg、治療後は、57.3 \pm 6.3kg、SP 治療群では、治療前 58.5 \pm 6.8kg、治療後は、56.8 \pm 6.9kg であり両群共に有意に減少した ($P < 0.01$)。

血清 Na は、両群共に有意の変化を認めなかった。

血清 K は、HCT 治療群では有意の変化を認めなかったが、SP 治療群では治療前 4.2 \pm 0.3mEq/L より治療後 4.5 \pm 0.3mEq/L と有意に増加した ($P < 0.05$)。

PRA は、HCT 治療群で治療前 0.9 \pm 0.6ng/ml/h、治療後 2.5 \pm 0.7ng/ml/h、SP 治療群では、治療前 0.8 \pm 0.7ng/ml/h、治療後 2.8 \pm 0.9ng/ml/h であり、両群共に有意の増加を認めた ($P < 0.01$)。

Table 4. Clinical and Biochemical Data after Long-term Treatment with Hydrochlorothiazide or Spironolactone

	Hydrochlorothiazide-treated Group (Age: 47.2 \pm 7.2 yr, n=14)			Spironolactone-treated Group (Age: 47.2 \pm 7.6 yr, n=11)		
	Control	Treatment	P	Control	Treatment	P
Blood Pressure (mmHg)						
Systolic	172 \pm 14	138 \pm 10	<0.01	176 \pm 14	142 \pm 8	<0.01
Diastolic	102 \pm 5	82 \pm 8	<0.01	105 \pm 6	86 \pm 6	<0.01
Mean	125 \pm 8	101 \pm 8	<0.01	128 \pm 6	104 \pm 5	<0.01
Body Weight (kg)	59.3 \pm 6.5	57.6 \pm 6.3	<0.01	58.5 \pm 6.8	56.8 \pm 6.9	<0.01
Serum Electrolytes (mEq/L)						
Sodium	141 \pm 2	139 \pm 3	NS	143 \pm 3	134 \pm 2	NS
Potassium	4.2 \pm 0.3	4.0 \pm 0.3	NS	4.2 \pm 0.3	4.5 \pm 0.3	<0.05
Plasma Renin Activity (ng/ml/h)	0.9 \pm 0.6	2.5 \pm 0.7	<0.01	0.8 \pm 0.7	2.8 \pm 0.9	<0.01
Plasma Aldosterone (ng/dl)	7.5 \pm 1.7	14.3 \pm 3.6	<0.01	6.1 \pm 2.2	15.8 \pm 2.8	<0.01
Plasma Cortisol (ug/dl)	11.1 \pm 2.2	11.8 \pm 2.5	NS	11.5 \pm 2.6	12.3 \pm 1.9	NS

NS=not significant

PA は、HCT 治療群で治療前 $7.5 \pm 1.7\text{ng/dl}$ 、治療後 $14.3 \pm 3.6\text{ng/dl}$ 、SP 治療群では治療前 $6.1 \pm 2.2\text{ng/dl}$ 治療後 $15.8 \pm 2.8\text{ng/dl}$ であり、両群共に有意の増加を示した ($P < 0.01$)。

PC は、両群共に有意の変化を認めなかった。

HCT 治療群と SP 治療群の比較 (Fig.1)

: Hydrochlorothiazide あるいは Spirolactone による治療前の成績を両群間で比較すると、血圧、体重、血清 Na、K、PRA 及び PC いずれにも有意差を認めなかった。

治療後の成績を比較すると、血圧、体重、血清 Na、PRA 及び PC は有意差を示さなかったが血清 K 及び PA は共に、HCT 治療群に比し、SP 治療群で有意に高い値を示した ($P < 0.05$)。

迅速 ACTH 刺激試験

: Hydrochlorothiazide あるいは Spirolactone による治療前の迅速 ACTH 刺激試験の成績を Fig 2 に示す。PA は、HCT 治療群で、前値 $7.5 \pm 1.7\text{ng/dl}$ に対して 30 分値 $19.8 \pm 3.5\text{ng/dl}$ 、60 分値 17.6

$\pm 3.0\text{ng/dl}$ であり、SP 治療群では、前値 $6.1 \pm 2.2\text{ng/dl}$ に対し 30 分値 $17.2 \pm 5.9\text{ng/dl}$ 、60 分値 $15.8 \pm 5.5\text{ng/dl}$ であり、両群共に、30 分値、60 分値は前値に比して有意に上昇した ($P < 0.01$)。

ACTH 刺激後の最大反応値と前値との差、すなわち Max Δ PA は、HCT 治療群で $12.5 \pm 3.1\text{ng/dl}$ 、SP 治療群で $11.3 \pm 4.7\text{ng/dl}$ であった。

PC は、Th 治療群で前値 $11.1 \pm 2.2\mu\text{g/dl}$ に対して 30 分値 $20.7 \pm 2.7\mu\text{g/dl}$ 、60 分値 $20.6 \pm 3.7\mu\text{g/dl}$ であり SP 治療群では前値 $11.5 \pm 2.9\mu\text{g/dl}$ に対して 30 分値 $18.9 \pm 3.8\mu\text{g/dl}$ 、60 分値 $19.6 \pm 3.3\mu\text{g/dl}$ であり、両群共に、30 分値、60 分値は、前値に比して有意に上昇した ($P < 0.01$)。

Max Δ PC は HCT 治療群で $10.9 \pm 2.7\mu\text{g/dl}$ 、SP 治療群で $8.7 \pm 3.3\mu\text{g/dl}$ であった。

HCT 治療群と SP 治療群の両群間を比較すると、PA、PC 共に、前値、30 分値、60 分値、Max Δ のいずれも有意差を示さなかった。

8 ヶ月以上に及ぶ Hydrochlorothiazide あるいは Spirolactone 治療継続中に行なった迅速 ACTH 刺激試験の成績は Fig 3 に示す如くである。

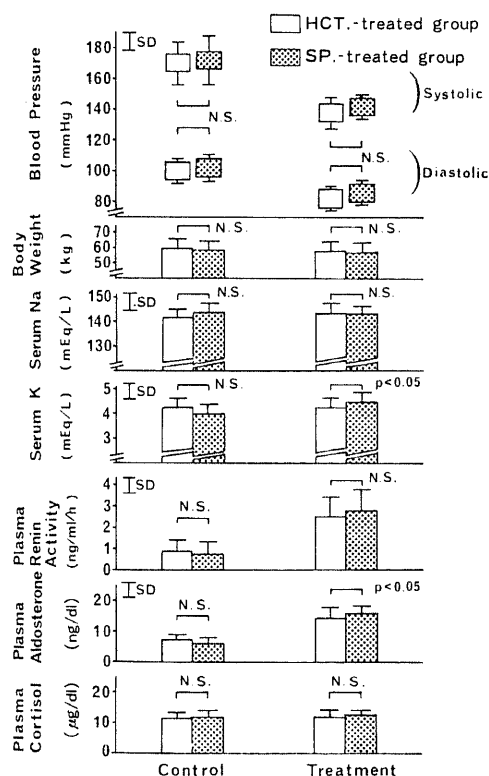


Fig. 1. Effects of prolonged treatment with Hydrochlorothiazide (HCT) or Spirolactone (SP).

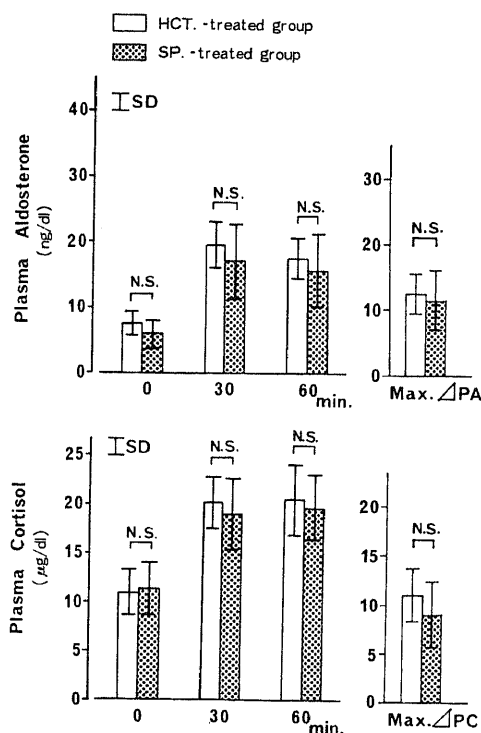


Fig. 2. Plasma Aldosterone and Cortisol Responses to α^{1-24} ACTH during Control Period

PA は、HCT 治療群で、前値 $14.3 \pm 3.6 \text{ ng/dl}$, 30 分値 $31.7 \pm 8.9 \text{ ng/dl}$, 60 分値 $32.3 \pm 7.8 \text{ ng/dl}$, Max Δ PA は、 $21.2 \pm 7.9 \text{ ng/dl}$ であり、SP 治療群では前値 $15.8 \pm 2.8 \text{ ng/dl}$, 30 分値 $24.9 \pm 7.1 \text{ ng/dl}$, 60 分値 $23.6 \pm 5.9 \text{ ng/dl}$ Max Δ PA は $9.8 \pm 4.0 \text{ ng/dl}$ であった。SP 治療群は、HCT 治療群に比して前値では有意に高値を示したが ($P < 0.05$)、反応においては 30 分値 ($P < 0.05$)、60 分値 ($P < 0.01$)、Max Δ PA ($P < 0.01$) のいずれも有意に低い値を示した。

一方 PC は、HCT 治療群で前値 $11.8 \pm 2.5 \mu\text{g/dl}$, 30 分値 $20.1 \pm 3.9 \mu\text{g/dl}$, 60 分値 $20.9 \pm 4.6 \mu\text{g/dl}$, Max Δ PC $10.4 \pm 2.8 \mu\text{g/dl}$ であり、SP 治療群では前値 $12.3 \pm 1.9 \mu\text{g/dl}$, 30 分値 $20.9 \pm 4.1 \mu\text{g/dl}$, 60 分値 $23.2 \pm 4.6 \mu\text{g/dl}$ Max Δ PC $11.3 \pm 4.7 \mu\text{g/dl}$ であった。両群間で前値、30 分値、60 分値、及び Max Δ PC について有意差検定を行なったが、いずれにおいても有意の変化ではなかった。

考 察

Spironolactone は、腎臓の遠位尿管におけるミネラルコルチコイドレセプターで aldosterone を競

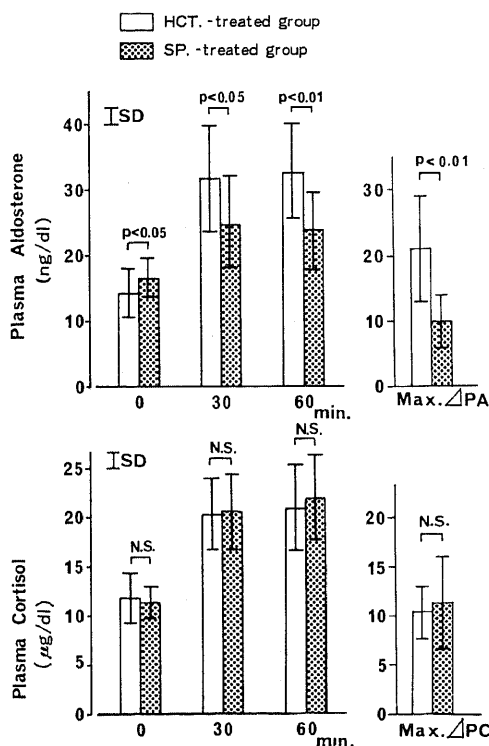


Fig. 3. Plasma Aldosterone and Cortisol Responses to α^{1-24} ACTH during Treatment

合阻止することによって、Na 排泄増加、K 貯留を促す¹²⁾。その結果生じる体液量減少がレニン・アンジオテンシン系を刺激し二次性アルドステロン症を惹起することが知られている⁸⁾⁹⁾。

ところが近年、Spironolactone が副腎皮質に直接作用し、球状層内での aldosterone 生合成を抑制する作用を有することが報告され^{3)~8)}、Spironolactone の新たな作用機序の面が注目されてきている。

1961 年 Janigan²²⁾ は、浮腫のため Spironolactone 治療を受けていた患者の副腎剖検材料で、皮質球状層内に好酸性の層状構造を示す細胞質封入体を見つけ、この封入体は Spironolactone 服用者でのみ生じるとした。その後、この細胞質封入体は Jenis と Hertzog²³⁾ によって spironolactone body と命名され、副腎皮質球状層にのみ見出されることが確かめられた。

更に、ラット副腎を用いた in vitro の実験で、Erbler³⁾ は、ACTH, dibutyryl-cyclic AMP, K 及び angiotensin II の aldosterone 産生刺激効果が、Spironolactone を加えることによって抑制されることを見出し、また臨床的にも正常人で利尿剤投与による aldosterone 排泄増加が、Spironolactone 投与によって減少するとし⁴⁾、Spironolactone が副腎における aldosterone 生合成を抑制することを証明した。一方、Sundsford⁵⁾ は原発性アルドステロン症患者を Spironolactone で 4 ヶ月間治療したところ、血清 K の正常化及び血漿レニン活性の上昇が認められるにもかかわらず、aldosterone 分泌量はかえって減少することを見出し、原発性アルドステロン症における Spironolactone の臨床効果は、aldosterone に対する拮抗作用のほかに副腎における aldosterone 生合成抑制作用が加わった結果であることを示唆した。

Conn⁸⁾ は、原発性アルドステロン症手術例で手術直前迄 Spironolactone が投与された患者においては、5 日以内の短期投与者を除き、全症例に spironolactone body が認められたと報告している。しかもこの spironolactone body は腺腫部位にのみ限局して認められ、周囲の球状層には見出されないことより、spironolactone body は aldosterone 産生可能な部位にのみ出現し、aldosterone 生合成が抑制されたために生じた形態学的異常であると推測している。更に spironolactone body の数は Spironolactone の投与期間と密接に関連しているが、長期間投与の場合 spironolactone body が見出れないこともあり得ることを示した。

副腎における Spironolactone の aldosterone 生合成抑制の作用部位については、Erbler³⁾ はラット副腎を用いた *in vitro* の実験で corticosterone より aldosterone への過程であるとし、ヒト副腎を用いた Cheng ら²⁴⁾ の *in vitro* 実験では、Spironolactone の代謝産物である Canrenone が 18-hydroxylation を著明に抑制する事実より corticosterone から 18-hydroxycorticosterone へのステップに与る酵素が阻害されることが確められた。

この様に、Spironolactone は副腎皮質に直接作用して、aldosterone 生合成を抑制することが知られているが、本態性高血圧症や原発性アルドステロン症患者に、実際に Spironolactone を長期にわたって投与した場合には、二次性アルドステロン症が起こるの^{50)~11)}、上に述べた Spironolactone の副腎での aldosterone 生合成に対する抑制効果はマスクされている可能性が考えられる。そこで本研究では、Spironolactone で長期間治療されている本態性高血圧症患者において、aldosterone 生合成抑制が果して存在するか否かを dynamic に検討する目的で、ACTH 急性刺激に対する aldosterone の反応態度を指標に調べた。この際 aldosterone 分泌反応に対する Spironolactone の影響をより明確にするため、対照として副腎に対する直接作用を除いては、Spironolactone と同じく Na 利尿を介してレニン・アンジオテンシン系を刺激し二次性アルドステロン症をきたす^{12)~14)} Hydrochlorothiazide による治療群を設け、その成績と比較した。

治療前、HCT 治療群と SP 治療群の間には、年令、血圧、体重、血清 Na, K, PRA, PA 及び PC のいずれにおいても有意差を認めなかった。このことは、両群が均質な本態性高血圧症患者より構成されていたことを示している。

Hydrochlorothiazide あるいは Spironolactone は、特に低あるいは正レニン性本態性高血圧症患者で一層顕著な降圧効果を発揮するとされており²⁵⁾²⁶⁾、本研究における被検対象もこれに該当し、全症例において有意の降圧を認めた。

両薬剤とも著者の採用した使用量にて、両治療群で同程度の降圧及び体重減少を伴っており、また血漿レニン活性の増加も同程度に認められた。Acchiardo ら¹²⁾ 及び Weinberger ら¹⁴⁾ もレニン分泌刺激効果は Hydrochlorothiazide 50mg/日投与と Spironolactone 100mg/日投与ではほぼ同程度であることを報告している。これに反し、血漿 aldosterone の増加は HCT 治療群に比し、SP 治療群で有意に高

値であった。Spironolactone 服用患者における aldosterone の RIA は、Spironolactone 代謝産物の干渉により見かけ上高値を示すことが警告されている²⁷⁾。しかし著者の使用した抗 aldosterone 抗体の特異性は極めて高く、測定上問題になる Spironolactone 及びその代謝産物による干渉は認められなかった。従って SP 治療群でみられた血漿 aldosterone の高値は真の血中 aldosterone の増加を反映しているものと考えられた。

ところで aldosterone 分泌刺激因子としては angiotensin II²⁸⁾、Na²⁹⁾、K³⁰⁾ 及び ACTH³¹⁾ が知られている。Hydrochlorothiazide あるいは Spironolactone 治療後の PRA 及び血清 Na には両治療群間で有意差が認められなかった。また PC にも両群間で有意差がなかったので aldosterone 分泌に対する内因性 ACTH 刺激の強さにも両群で差がなかったと判断される。血清 K は Spironolactone 治療によってのみ有意の増加を示した。従って angiotensin II, Na 及び ACTH による aldosterone 分泌刺激が両群で同程度であったにもかかわらず、HCT 治療群と SP 治療群の間にみられた血漿 aldosterone 増加の相違は、Spironolactone 治療後にみられた血清 K の増加が aldosterone 分泌刺激としてはたらいた結果と推定された。

Hydrochlorothiazide あるいは Spironolactone 治療前に行なった迅速 ACTH 刺激試験では、両治療群共に同程度の血漿 aldosterone 及び血漿 Cortisol 増加反応を示し、これらコルチコイドの Max Δ もまた同程度であった。治療後、HCT 治療群では血漿 aldosterone は治療前に比し、前値、ACTH 投与後 30 分値、60 分値、いずれも有意に増加し、Max Δ PA も有意に増加していた。これに反し、SP 治療群では、血漿 aldosterone は治療前に比し、前値、ACTH 投与後 30 分値、60 分値とも有意に増加していたが、Max Δ PA には有意差を認めず、HCT 治療群で認められた Max Δ PA の増加とは明らかに異なっていた。また治療後の ACTH に対する血漿 aldosterone の反応を両治療群間で比較すると、SP 治療群では HCT 治療群に比して、前値、ACTH 投与後 30 分値、60 分値及び Max Δ PA いずれも有意に低値を示した。すなわち SP 治療群では ACTH に対する血漿 aldosterone 反応の抑制が認められた。

SP 治療では、治療後 PRA 及び血清 K の有意の上昇を認めており、これら 2 つの因子は、いずれも ACTH 刺激に対する aldosterone 反応を増強すると

いわれている³²⁾³³⁾。確かに HCT 治療群では治療後、Max Δ PA は増加しており、ACTH 刺激に対する aldosterone 反応の増強を示している。これは Hydrochlorothiazide 投与による PRA の上昇が aldosterone 反応を増強したものと考えることができる。

以上の如く、SP 治療群で ACTH 刺激に対する aldosterone の反応を増強する因子 (PRA 及び K の増加) があるにもかかわらず、かえって aldosterone の反応が低下していたことは、Spironolactone 治療が ACTH 刺激に対する aldosterone 生合成を副腎で直接抑制している可能性を示しているものと考えることができる。

Rose ら³⁴⁾は Spironolactone 投与者における testosterone の metabolic clearance rate (MCR) 亢進の原因として、sex-hormone binding globulin 結合の阻止あるいは肝での testosterone 不活性化促進が考え得ると報告している。それ故、Spironolactone 治療によって認められた ACTH に対する血漿 aldosterone 反応の抑制機序についても Spironolactone による血漿 aldosterone の MCR 促進が関与している可能性が考えられる。しかし、4 ヶ月間 Spironolactone で治療した原発性アルドステロン症で aldosterone の MCR は正常であったという Sundsfjord⁵⁾の成績からすると、ACTH に対する血漿 aldosterone 反応抑制に、aldosterone の MCR 促進が関与しているとは考え難い。従って Spironolactone 治療で認められた ACTH に対する aldosterone 反応の抑制は、副腎皮質球状層よりの aldosterone 分泌を正確に反映していると考えるのが妥当で、球状層内における aldosterone 生合成抑制を示唆しているといえる。

Spironolactone の副腎内 aldosterone 生合成抑制の作用部位については、血漿 cortisol が基礎値及び ACTH 投与後の値とも、Spironolactone 治療によって修飾されていない事実から、 11β -hydroxylase 以前の酵素系に及ぼす Spironolactone の影響は考え難く、Corticosterone から aldosterone への転化、すなわち Ulick ら³⁵⁾の唱える "corticosterone-methyl oxidase system" にあるものと推定される。これは前述した Erbler³⁾及び Cheng ら²⁴⁾の報告と一致する。

次に、Spironolactone 長期治療によって二次性アルドステロン症が認められたにもかかわらず、何故 ACTH 刺激に対して血漿 aldosterone 反応が抑制されたか、その機序の詳細については本研究からは明ら

かでない。

Conn ら⁸⁾は、原発性アルドステロン症に Spironolactone を長期投与した際にみられる aldosterone 生合成抑制からの離脱の機序について、corticosterone から aldosterone への転化 (aldosterone 生合成の late step) に及ぼす Spironolactone の阻害効果が、「Na 喪失」(腎での Spironolactone の抗 aldosterone 作用による)による late step の活性化³⁶⁾によりマスクされてしまうためであろうと説明している。この仮説によれば、Spironolactone で生じた二次性アルドステロン症は、(1)「Na 喪失」による aldosterone 生合成の late step の活性化、(2)レニン・アンジオテンシン系賦活化による aldosterone 生合成の early step (cholesterol から pregnenolone への転化)の刺激³⁷⁾、(3)血清 K 増加による early 及び late step の刺激効果³⁸⁾³⁹⁾の3者により生じたと考えられる。

ACTH 刺激はまた、aldosterone 生合成に際して、cholesterol から pregnenolone への転化の early step を刺激して生合成を高めるとされている⁴⁰⁾⁴¹⁾。本研究に用いた ACTH 負荷が急性かつ十分に副腎皮質を刺激したことは、治療前の aldosterone 及び cortisol の反応成績が示すところである。従って Spironolactone によって生じた、ACTH に対する aldosterone 反応の抑制は、ACTH により刺激された early step までの steroid 生合成過程の流れが、その後は促進しないためと思われる。

すなわち、この Spironolactone による late step の抑制効果は、非刺激状態では、「Na 喪失」によりマスクされているが、ACTH により顕性化したと推測される。

もとより、Spironolactone 長期服用患者に生ずる二次性アルドステロン症では、Spironolactone による aldosterone 生合成の late step の抑制が消失しているわけではなく、「Na 喪失」の刺激効果が上まっているだけのことであり、aldosterone 生合成抑制機構は常に潜在していると考えられる。

結 語

Spironolactone によって長期治療されている本態性高血圧症患者を対象に、果して aldosterone の生合成抑制が存在するか否かを調べるために、Hydrochlorothiazide 投与の本態性高血圧症患者を対照として研究を行なった。

8 ヶ月以上、Hydrochlorothiazide (HCT) (50 ~ 75mg/日)を投与している 14 例 (HCT 治療群)及び

Spironolactone (SP) (75 ~ 100mg/日) を投与している 11 例 (SP 治療群) の本態性高血圧症患者に、合成 α^{1-24} ACTH を 250 μ g 筋注し、血漿 aldosterone (PA) 及び血漿 cortisol (PC) の反応を radioimmunoassay (RIA) にて測定した。

Spironolactone 服用患者については、両 RIA の特異性を確認するため、Spironolactone 及びその代謝産物と両 RIA 抗体との交叉反応を求めたところ、抗 aldosterone 抗体に対しては、0.00033 % 以下、抗 cortisol 抗体に対しては 1.500 % 以下であり、両 RIA の高い特異性が証明された。

両薬剤の治療による、血圧の減少、体重の減少、血漿レニン活性の上昇は HCT 治療群及び SP 治療群の両群間で有意差を示さなかったが、血清 K, PA は治療後、SP 治療後で HCT 治療群に比し有意に上昇していた。

ACTH 刺激に対する PC の反応は、両治療群間で有意差を示さなかったが、PA の反応は治療後、SP 治療群で HCT 治療群に比し有意に抑制されていた。

以上の如く、SP 治療後、血清 K の上昇を伴った二次性アルドステロン症が存在するにもかかわらず、ACTH 刺激に対する aldosterone 反応が抑制されていたことは、Spironolactone の aldosterone 生合成抑制を示しており、Spironolactone 長期治療本態性高血圧症患者には常に aldosterone 生合成抑制機構が潜在していることが示唆された。

稿を終るに臨み御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師竹田亮祐教授に深甚なる謝意を表します。また直接の御指導と御教示を賜りました森本真平助教授に深く感謝致します。併せて本研究遂行に御協力下さいました、斉藤善蔵博士、内田健三博士、宮森勇博士及び第 2 内科第 2 研究室諸先生方に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Kagawa, C. M., Cella, J. A. & Arman, C. G. V. : Action of new steroids in blocking effects of aldosterone and deoxycorticosterone on salt. *Science*, **126**, 1015-1016 (1957).
- 2) Funder, J. W., Feldman, D., Highland, E. & Edelman, I. S. : Molecular modifications of anti-aldosterone compounds : Effects on affinity of spironolactones for renal aldosterone receptors. *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 1493-1501 (1974).
- 3) Erbler, H. C. : Stimulation of aldosterone production in vitro and its inhibition by spironolactone. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **273**, 366-375 (1972).
- 4) Erbler, H. C. : Inhibition of aldosterone production in diuretic-induced hyperaldosteronism by aldosterone antagonist canrenone in man. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **285**, 395-401 (1974).
- 5) Sundsfjord, J. A., Marton, P., Jørgensen, H. & Aakvaag, A. : Reduced aldosterone secretion during Spironolactone treatment in primary aldosteronism : Report of a case. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **39**, 734-739 (1974).
- 6) Abshagen, U., Sporn, S., Schoneshofer, M., L'age, M., Rennekamp, H. & Oelkers, W. : Influence of spironolactone on endogenous steroid metabolism in man. *Clin. Sci. Mol. Med.*, **51**, 307s-310s (1976).
- 7) Vetter, H., Appenheimer, M., Lucas, R., Weiland, H., Herschbach, M. L., Glanzer, K., Witassek, F. & Kruck, F. : Effect of a spironolactone on plasma and urinary aldosterone in primary aldosteronism. *Hormone Res.*, **8**, 23-28 (1977).
- 8) Conn, J. W. & Hinerman, D. L. : Spironolactone-induced inhibition of aldosterone biosynthesis in primary aldosteronism : Morphological and functional studies. *Metabolism*, **12**, 1293-1307 (1977).
- 9) Vaughan, E. D., Laragh, J. H., Gavras, I., Buhler, F. R., Gavras, H., Brunner, H. R. & Baer, L. : Volume factor in low and normal renin essential hypertension. Treatment with either spironolactone or chlorthalidone. *Am. J. Cardiol.*, **32**, 523-532 (1973).
- 10) Schambelan, M., Brust, N., Chang, B. & Biglieri, G. : Aldosterone production in low renin hypertensive states : Response to spironolactone therapy. *Excerpta Medica Int. Congr., Ser. No.302*, 187-192 (1973).
- 11) Drayer, J. I. M., Kloppenborg, P. W. C., Festen, J., Laar, A. & Benraad, T. J. : Inpatient Comparison of treatment with chlorthalidone, spironolactone and propranolol in normoreninemic essential hypertension. *Am. J. Cardiol.*, **36**, 716-721 (1975).
- 12) Acchiardo, S., Dustan, H. P. & Tarazi, R. C. : Similar effects of hydrochlorothiazide and

spironolactone on plasma renin activity in essential hypertension. *Clev. Clin. Quart.*, **39**, 153-162 (1972).

13) **Kirkendall, W. M. & Overturf, M. L.** : Thiazide diuretics and salt consumption in the treatment of hypertension. p119-129. In M. P. Sambhi (ed.), *Systemic effects of antihypertensive agents*, Stratton Co., New York, 1976.

14) **Weinberger, M. H. & Grim, C. E.** : Effects of Spironolactone and hydrochlorothiazide on blood pressure and plasma renin activity in hypertension. p481-493. In M. P. Sambhi (ed.), *Systemic effects of antihypertensive agents*, Stratton Co., New York, 1976.

15) **Veterans administration cooperative study on antihypertensive agents** : A double blind control study of antihypertensive agents. *Arch. Int. Med.*, **106**, 81-96 (1960).

16) **Takeda, R., Morimoto, S., Uchida, K. & Miyamori, I.** : Changes in plasma renin activity and plasma aldosterone in the induced paralytic attack of thyrotoxic periodic paralysis. *Acta Endocrinol.*, **82**, 715-727 (1976).

17) **Skinner, S. L.** : Improved assay methods for renin "concentration" and "activity" in human plasma. *Circulation Res.*, **20**, 391-402 (1967).

18) **Vetter, W., Vetter, H. & Siegenthaler, W.** : Radioimmunoassay for aldosterone without chromatography. 2. Determination of plasma aldosterone. *Acta Endocrinol.*, **74**, 558-567 (1973).

19) 吉見輝也・立花清司 : ステロイドホルモン(コーチゾール, アルドステロン). *臨床化学*, **3**, 53-61 (1974).

20) **Abraham, G. E.** : Solid-phase radioimmunoassay of estradiol-17 β . *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **29**, 866-870 (1969).

21) **Karim, A., Zagarella, J. B. A., Hustell, T. C. & Dooley, M.** : Spironolactone. III. canrenone maximum and minimum steady-state plasma levels. *Clin. pharmacol. Therapeut.*, **19**, 177-182 (1976).

22) **Janigan, D. T.** : Cytoplasmic bodies in the adrenal cortex of patients treated with spironolactone. *Lancet*, **1**, 850-852 (1963).

23) **Jenis, E. H. & Hertzog, R. W.** : Effect of spironolactone on the zona glomerulosa of the adrenal gland. Light and electron microscopy. *Arch. Pathol.*, **88**, 530-539 (1969).

24) **Cheng, S. C., Suzuki, K., Sadee, W. & Harding, B. W.** : Effects of spironolactone, canrenone and canrenoate-K on cytochrome p450, and 11 β - and 18-hydroxylation in bovine and human adrenal cortical mitochondria. *Endocrinology*, **99**, 1097-1106 (1976).

25) **Carey, R. M., Douglas, J. G., Schweikert, J. R. & Liddle, G. W.** : The syndrome of essential hypertension and suppressed plasma renin activity. Normalization of blood pressure with spironolactone. *Arch. Intern. Med.*, **130**, 849-854 (1972).

26) **Adlin, E. V., Marks, A. D. & Channick, B. J.** : Spironolactone and hydrochlorothiazide in essential hyperfension. *Arch. Intern. Med.*, **130**, 855-858 (1972).

27) **Sadee, W., Finn, A. M., Schmiedek, P. & Baethmann, A.** : Aldosterone plasma radioimmunoassay interference by a spironolactone metabolite. *Steroid*, **25**, 301-311 (1975).

28) **Largh, J. H., Angers, M., Kelly, W. G. & Lieberman, S.** : Hypotensive agents and pressor substances. The effect of epinephrine, norepinephrine, angiotensin II and others on the secretory rate of aldosterone in man. *J. A. M. A.*, **174**, 234-240 (1960).

29) **Luetscher, J. A. & Axelrand, B. J.** : Increased aldosterone output during sodium deprivation in normal men. *Proc. Soc. exp. Biol.*, **87**, 650-653 (1954).

30) **Himathongkam, T., Dluhy, K. G. & Williams, G.** : Potassium-aldosterone-renin interrelationships. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **41**, 153-159 (1975).

31) **Nicholls, M. G., Espiner, E. A. & Donald, R. A.** : Plasma aldosterone response to low dose ACTH stimulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **41**, 186-188 (1975).

32) **Kem, D. C., Gomez-Sanchez, C., Kramer, N. J. Holland, O. B. & Higgins, J. R.** : Plasma aldosterone and renin activity response to

ACTH infusion in dexamethason-suppressed normal and sodium-depleted man. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, **40**, 116-124 (1975).

33) Williams, G. H., Dluhy, R. G. & Underwood, K. H. : The relationship of dietary potassium intake to the aldosterone stimulating properties of ACTH. *Clinical Science*, **39**, 489-496 (1970).

34) Rose, L. I., Underwood, R. H., Newmark, S. R., Kisch, E. S. & Williams, G. H. : Pathophysiology of spironolactone-induced gynecomastia. *Ann. Intern. Med.*, **87**, 398-403, (1977).

35) Ulick, S. : Diagnosis and nomenclature of the disorders of the terminal portion of the aldosterone biosynthetic pathway. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **43**, 92-96 (1976).

36) Kaplan, N. M. : The biosynthesis of adrenal steroids : Effects of angiotensin II, adrenocorticotropin and potassium. *J. Clin. Invest.*, **44**, 2029-2039 (1965).

37) Blair-West, J. R., Brodie, A., Coghlan, J. P., Denton, D. J., Flood, C., Goding, J. R., Scoggins,

B. A., Tait, J. F., Tait, S. A. S., Wintour, E. M. & Wright, R. D. : Studies on the biosynthesis of aldosterone using the sheep adrenal transplant : Effect of sodium depletion on the conversion of corticosterone to aldosterone. *J. Endocr.*, **46**, 453-476 (1970).

38) Muller, J. : Aldosterone stimulation in vitro III. Site of action of different aldosterone stimulating substances on steroid biosynthesis. *Acta Endocrinol.*, **52**, 515-526 (1966).

39) Boyd, J., Marusic, E. & Murlow, P. : Effect of potassium on aldosterone biosynthesis by rat adrenal mitochondria. *Clin. Res.*, **16**, 262 (1968).

40) Stone, D. & Hechter, O. : Studies on ACTH action in perfused bovine adrenals : The site of action of ACTH in corticosteroidogenesis. *Arch. Biochem.*, **51**, 457-469 (1954).

41) Kaplan, N. M. & Bartter, F. C. : The effect of ACTH, renin, angiotensin II and various precursors on biosynthesis of aldosterone by adrenal slices. *J. Clin. Invest.*, **41**, 715-724 (1962).

A b s t r a c t

It has been shown that spironolactone has an inhibitory action of aldosterone biosynthesis, as well as an antagonistic action at the effector level, both in animals and in man. Its inhibitory action on the adrenal cortex occurs between corticosterone and aldosterone, the late step of aldosterone biosynthesis. Short-term spironolactone treatment inhibits the increases in plasma and urinary aldosterone induced by diuretics, and decreases the plasma aldosterone secretion rate in patients with primary aldosteronism. However, when spironolactone is administered long-term to patients with essential hypertension or with primary aldosteronism, its inhibitory action on aldosterone production is difficult to demonstrate in the presence of secondary hyperaldosteronism caused by the renal antialdosterone action of spironolactone.

Since spironolactone was known to inhibit the ACTH-induced increase in aldosterone production in rat adrenal, we investigated the response of plasma aldosterone to acute ACTH stimulation during long-term spironolactone treatment in patients with essential hypertension in order to evaluate the inhibitory action of long-term spironolactone treatment on aldosterone production. The results were compared with those in patients with essential hypertension who were chronically treated with hydrochlorothiazide, which acts independently of aldosterone and also induces the secondary hyperaldosteronism.

Plasma aldosterone (PA) response to ACTH (250 μ g of α^{1-24} ACTH, intramuscularly) stimulation during spironolactone treatment (75 to 100 mg/day) for at least 8 months was studied in 11 hypertensives in comparison with the results during long-term hydrochlorothiazide treatment (50 to 75 mg/day), with or without potassium supplement in 14 hypertensives. PA and plasma cortisol (PC) were determined by radioimmunoassay. These methods had only a little interference with spironolactone and its metabolites. Both treatments of spironolactone and hydrochlorothiazide caused an almost identical fall of blood pressure and body weight. Plasma renin activity similarly increased during both treatment. Serum potassium significantly increased during spironolactone treatment, but remained unchanged during hydrochlorothiazide treatment. PA increased more during spironolactone treatment than during hydrochlorothiazide treatment. PA response to ACTH was blunted during spironolactone treatment. The maximal PA increment was significantly lower during spironolactone treatment than during hydrochlorothiazide treatment. PC responded similarly before and during both treatments.

These results demonstrate that long-term spironolactone treatment can cause a blunted response of plasma aldosterone to ACTH stimulation in spite of the increases of plasma renin activity and serum potassium. This phenomenon may be due to an inhibitory action of spironolactone on aldosterone biosynthesis.
